

本研究で使用した Hb 小胞体は、(株)オキシジェニクスにて調製、物性値評価され研究用試料として配布された。

C. 研究結果・考察

実験①無処置のラットにおいて上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中には少量のリンパ節が存在すると考えられた。肉眼的には脂肪組織中に微小なリンパ節が少数確認できた。病理組織学的にもこれらがリンパ節であることが確認できた。

実験②ラットの活動性に著変は見られなかった。体重は一過性に減少したが、速やかに回復した。盲腸の穿刺創の修復 4～7 日後に開腹を行った。盲腸漿膜表面には微小な出血斑が見られた。創部周囲には軽度の腹膜炎が発生しており、癒着が見られた。腹腔内に腹水が少量存在した。開腹部にも軽度の癒着が見られた。上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中に肉眼的に見られたリンパ節は実験①の無処置群に比べより顕著であり、リンパ節腫大が見られた。培養結果は好気性培養、嫌気性培養ともに陰性であった。開腹した後無処置で閉腹を行った群ではリンパ節腫大は顕著ではなかった。

実験③ショック蘇生後ラットの活動性、食欲には変化は見られなかった。またアルブミン群、HbV 群で差は見られなかった。体重もアルブミン群、HbV 群で差は見られなかった。ショック蘇生後 4、7 日目に開腹を行った。腹腔内に明らかな異常所見は見られなかった。4 日目には上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中のリンパ節は無処置群と同様明らかなではなかった。7 日目には上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中のリンパ節は肉眼的にはより明らかなであった。病理組織学的にはリンパ節が確認されたが、4、7 日目ともに培養結果は好気性培養および嫌気性培養ともに陰性であった。

実験④ラットの活動性は術後 2 日目あたりまで若干低下したがその後回復した。体重は一過性に減少したが、速やかに回復した。盲腸の結紮後穿刺創作成後 4～7 日後に開腹を行った。創部周囲には

限局した腹膜炎が発生しており、癒着が見られた。腹腔内に腹水が存在した。開腹部にも軽度の癒着が見られた。上腸管膜動静脈周囲の脂肪組織中に肉眼的に見られたリンパ節は実験①の無処置群に比べより顕著であり、リンパ節腫大が見られた。培養結果は好気性培養にて大腸菌、腸球菌、B 群溶連菌が高率に検出された。嫌気性培養は陰性であった。1 例で血液中からも腸球菌が検出された。

代表的炎症性サイトカインとして TNF α 、IL-1 β 、IL-6、IL-10 を測定した。TNF α の上昇が一部の動物で示唆された。炎症に抑制的に作用すると考えられている IL-10 においては明らかな変化は見られなかった。

昨年度に引き続き出血性ショックから SIRS 状態への移行原因の一つとされている腸管の虚血による粘膜バリアの破壊と腸内細菌の移動の可能性を再現し評価し得る動物モデルの作成を試みた。それと平行して血中サイトカインの推移も測定した。昨年度の検討では腸管膜リンパ節は開腹のみでは影響は受けにくいと考えられた。従来報告では、ラットを用いたエンドトキシン投与モデルや出血性ショックモデル、および腸管結紮や腸管虚血再還流モデルにおいて腸間膜リンパ節の細菌培養の陽性化が報告されている。これらの病態において全身的にサイトカインの産生が亢進するとされている。昨年度は腸管膜に損傷を作成し、その修復を行なった。このモデルでは腸管漿膜の擦過のみの比べて侵襲は増大したと考えられたが、検討した範囲では腸間膜リンパ節の培養陽性所見は得られなかった。さらに培養方法などを見直すことも必要と考えられたが、侵襲と採取時期をさらに検討する必要があると考えられた。血中のサイトカインの推移についても一定の傾向は見られず、ある程度候補を絞った上で、時間軸を広げて測定する必要があると考えられた。本年度行った盲腸結紮後穿刺モデルでは、限局性腹膜炎が見られ、また腸間膜リンパ節の腫大、好気性菌培養陽性所見が得られた。出血性ショックモデルにおいては膠

質液による出血性ショック蘇生はそれ自体有効である可能性があり、さらにヘマトクリットを低下させるよう、例えば出血性ショック蘇生を2回繰り返すなどのモデルを検討する必要があると考えられたが生存を得ることが難しい可能性が示唆された。実際予備実験では30%出血蘇生を2回行なうと5%アルブミン群における安定した生存は得がたく、さらなる検討が必要であった。今後は出血性ショックの状態にある時間の延長、あるいは膠質浸透圧を有さない生理食塩水などに分散した試料による蘇生も検討する必要がある。

本実験で検討した盲腸穿刺後結紮モデルは高率に腸間膜リンパ節へ細菌移行が見られ、また敗血症を一過性にきたしている可能性もあり、SIRSを再現するモデルになり得る可能性が考えられた。このモデルにおいて人工赤血球を投与し、その影響を観察できる可能性が示唆された。また、このプロトコールにおいてサイトカイン測定を計画することが可能と考えられた。

D. 結論

出血性ショックからSIRSに至る過程において、腸管粘膜の破綻とそれに続く腸内細菌の腸間膜リンパ節への移行の関与が動物実験で示唆されている。昨年度本実験では、動物におけるSIRSモデル作成とサイトカイン測定に先立ち、上記報告の再現を試みたが、腸間膜リンパ節の培養で陽性結果は得られなかった。本年度行った盲腸結紮後穿刺モデルでは腸内細菌の腸間膜リンパ節への移行が高率に見られSIRSにおける人工赤血球投与時に影響を評価するモデルとしての応用が考えられた。

③平成17年度

A. 研究目的

心停止下に行う心臓外科手術において、心臓と肺の機能を肩代わりする人工心肺の使用は必須である。人工心肺回路は心臓の役割を果たすローラーポンプ（または遠心ポンプ）と肺の役割を果た

す膜型人工肺から成る。近年心臓外科手術の成績は、手技の発達に加え、ポンプと人工肺の優れた性能により、飛躍的に向上している。

その中でも先天性心疾患を伴う体重10kg以下の乳児の開心術においては、同種血輸血による人工心肺回路充填が一般に行われている。その理由は、人工心肺回路の充填量である300mlから400mlを晶質液で満たした場合、体重10kg以下の患者（循環血液量は約800ml）では、高度な血液希釈が生じ、酸素運搬を担う赤血球の相対的な減少により組織障害、特に酸素需要の大きな脳の障害を来すためである。

このために、現在体重10kg以下の患者に体外循環を行う場合、赤血球輸血は避けられない状況にある。しかし一方で、輸血による感染症、移植片対宿主反応、免疫抑制といった弊害が明らかであり、また、炎症性生体物質の遊離を促進することによる脳障害の発生も指摘されており、できるだけ輸血を避けるように努めるべきである。

この臨床上のジレンマの解決手段のひとつとして、我々は、人工酸素運搬体であるHb小胞体に着目し、研究を進めてきた。Hb小胞体が膜型人工肺においてヒト赤血球と等しく、酸素の取り込みや二酸化炭素排出の役割を果たし、安全に使用できることを証明できれば、無輸血小児心臓手術の実現に大きな一歩となると考えた。

平成16年度は、ラット人工心肺モデルを確立し、90分間の人工心肺運転後7日間において神経学的認知試験を施行した。その結果、Hb小胞体充填群では人工心肺運転中の血液の酸素化が十分に保たれ、慢性期における高次脳機能が維持されることが証明された。

本研究では、Hb小胞体を人工心肺回路の充填液として使用することにより、膜型人工肺が血液を十分に酸素化し、高度な血液希釈状態における酸素供給不足を補うことができることを証明することを目的とした。

B. 研究方法

新生児の体重に近い、体重 3.0~4.0kg のビーグル犬人工心肺モデルを確立した。ローラーポンプと動物実験用膜型肺を用いて人工心肺回路を作成し、回路の充填液を、①5%リコンビナントアルブミン（アルブミン群）、②Hb 小胞体（HbV 群）、③同種血（同種血群）の 3 群に分けた。Hb 小胞体は 5%リコンビナントアルブミンに分散させ、Hb 濃度を 8.6 g/dL とした。人工心肺回路の充填量は 100ml であった。

ケタラル筋注によりビーグル犬を鎮静し、末梢静脈ラインを確保した。心電図モニタリング下にネンプタールを静脈投与後、気管内挿管（6mm カフ付チューブ）を行った。セボフルレンで全身麻酔を維持した。左浅大腿動脈にカットダウン法で動脈圧ラインを挿入留置した。左側臥位とし、右顎静脈より中心静脈カテーテル（ダブルルーメン）を挿入留置、血流量測定のために右総頸動脈を剥離、テーピングした。胸骨正中切開は行わず、右第 4 肋間開胸を加え、上行大動脈に送血管を、右房に脱血管を挿入し、人工心肺を確立した。それぞれ皮膚切開線はできるだけ小さくし、動物への負担を最小にするように配慮した。人工心肺の運転は、常温下に無拍動送血法で 120~160ml/kg の流量で 90 分間行った。人工心肺運転後、回路内血液を遠心分離し、血球成分を血管内に戻し、120 分間生存させた。計測項目は、動脈圧、中心静脈圧、心拍数、直腸温、頸動脈血流量、心拍出量とした。また、動脈血、頸静脈血、混合静脈血について、血液ガス分析、lactate 濃度、ヘマトクリット値測定を行った。頸動脈血流は脳血流の総量に比例すると考え、超音波ドップラー血流計で総頸動脈の血流を測定した。心拍出量として、上行大動脈での血流を同様に測定した。測定時点は、人工心肺運転前 5 分、運転開始後 15、30、60、90 分、人工心肺離脱後 15、30、60、120 分とした。

同種血群では、イヌ赤血球抗体（DEA 1.1）陰性のイヌをドナーとし、当日朝採取しヘパリン化し

た新鮮血を人工心肺回路の充填に使用した。

実験終了後、動物は犠牲死させ、脳組織を採取し、海馬部の病理学的評価を行う。

本研究で使用した Hb 小胞体は、(株)オキシジェニクスにて調製、物性値評価され研究用試料として配布された。

C. 究結果・考察

平成 17 年度前半は、人工心肺運転の確立のための予備実験を行った。体重 3.0~4.0kg の幼若ビーグル犬は、週齢 8~10 でちょうど離乳したところであるが、当施設での飼育環境への適応は良好であった。また、幼若であるために、喉頭の構造が小さいことに加え、声門が細く、当初は気管内挿管に時間を要し、容易に呼吸性アシドーシスを認めしたが、気管内挿管に習熟した後は、問題なく全身麻酔の維持を行うことができた。

溶血や出血による強い血液希釈が当初見られたが、手術手技や人工心肺運転技術の習熟に伴いいずれも解決し、アルブミン充填群において人工心肺運転中のヘマトクリット値は 20%を保つことが可能になった。

人工心肺中の動脈血の酸素分圧は 3 群とも高値を保った。動脈血と頸静脈血との間の酸素含有量の差分を、脳の酸素代謝総量に比例すると考え、各群で比較した。

アルブミン群 (n=4)、HbV 群 (n=3)、同種血群 (n=1) 間において、人工心肺運転前に対する人工心肺離脱後の頸動脈血流量変化に有意差を認めないが、HbV 群で低下が少ない傾向にあった。いずれの群も n を重ねている段階である。

人工心肺中の頸動脈血流量はいずれの群も比較的保たれているが、特に人工心肺離脱後 120 分の時点での頸動脈血流量の変化が大きく現れる傾向にあった。人工心肺離脱後 120 分の時点での頸動脈血流量は、アルブミン群では HbV 群より少ない傾向であったが、有意差は認めていない。アルブ

ミン群における人工心肺離脱後の脳血流量の減少は、脳浮腫による脳圧上昇が灌流圧を下げているためと考えられる。また、同種血群ではHbV群より同時点での頸動脈血流量が少ない傾向であったが、有意差を認めなかった。いずれも今後、nを重ねた上での検討が必要である。

Hb小胞体の血中半減期は約20から30時間である。本研究では人工心肺運転中の血液が希釈される、限られた数時間に酸素運搬体としての働きを担うことができればよい。したがって、人工心肺離脱後のHb小胞体の除去の可否、除去の方法について、検討が必要であり、現在研究が進行中である。

急性肺障害や急性心筋障害の治療に用いられるECMO(Extracorporeal membranous oxygenation)は、装着に緊急を要することが多いため、回路充填のために迅速に使用できるHb小胞体は非常に有用である。また、その運転は数日に及ぶことがあり、輸血回避を目指すならば定期的にHb小胞体の補充が必要である。小林のグループの研究によると、動物に対する1週間にわたる投与によりHb小胞体を取り込まれる肝や脾の腫大が認められているが、機能障害などは認めず、安全性が示された。

D. 結論

人工心肺回路の充填にHb小胞体を用い、ヒト赤血球と同様の組織への酸素供給能を持つことが証明されたことは、Hb小胞体の心臓外科領域における臨床応用に向けた一歩になると考える。

③平成18年度

A. 研究目的

先天性心疾患を伴う体重10kg以下の乳児の開心術においては、同種血輸血による人工心肺回路充填が一般に行われている。その理由は、人工心肺回路の充填液は300mlから400ml必要であり、これを晶質液で満たした場合、体重10kg以下の患者(循環血液量は約800ml)では、高度な血液希釈が

生じ、酸素運搬を担う赤血球の相対的な減少により組織障害、特に酸素需要の大きな脳の障害を来たすためである。

このために、現在体重10kg以下の患者に体外循環を行う場合、赤血球輸血は避けられない状況にある。しかし一方で、輸血による感染症、移植片対宿主反応、免疫抑制といった合併症のリスクを伴い、社会的にも大きな問題となっている。また、炎症性生体物質の遊離を促進することによる脳障害の発生も指摘されており、できるだけ輸血を避けるように努めるべきである。

この臨床上のジレンマの解決手段のひとつとして、我々は、人工酸素運搬体であるHb小胞体に着目した。現時点のHb小胞体は半減期が約20から30時間と短いことが欠点のひとつになっている。しかしながら人工心肺運転中に生じる血液希釈状態という特殊な環境はおよそ数時間であり、その数時間だけ血液の役割を果たし、その後速やかに代謝される現在のHb小胞体は小児心臓外科の立場から考えると臨床上のジレンマを解決に導く大きな利点となる。すなわち、Hb小胞体の欠点を利点として活用するという逆転的発想により本研究は成り立っている。

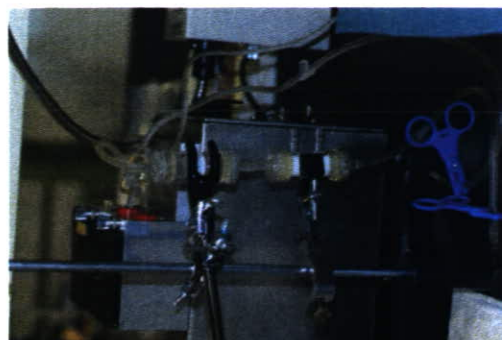
平成18年度は15～16年度の人工心肺モデルにおける具体的な脳血流量の測定モデルの確立を目指した。

B. 研究方法

ラット慢性人工心肺モデル

ローラーポンプと特製膜型肺を用いて人工心肺回路を作成し(下図参照)、回路内に5%アルブミンを充填した群(HbV(-)群)、同種血を充填した群(輸血群)、Hb小胞体を充填した群(HbV(+)群)、偽手術群(コントロール群)の4群に分けて実験を行う。体重450g前後のSDラットをセボフルレンにて全身麻酔し、14G静脈留置針にて気管内挿管した。挿管後人工呼吸器管理とする。人工心肺のカニューレーションとして、脱血は経右内頸静脈的

に右房から、送血は尾動脈を介して行う。人工心
肺の運転は常温下、無拍動送血法で 200ml/kg/min
の流量で 90 分間行う。回路内充填量は 60ml とする



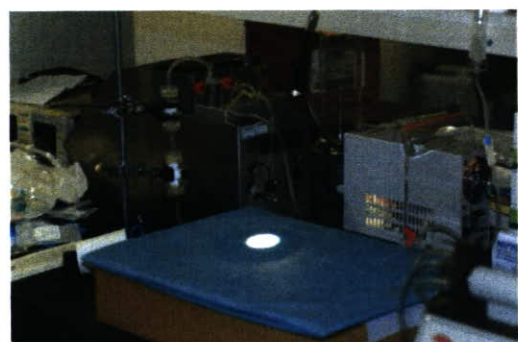
回路と熱交換器 透析用回路



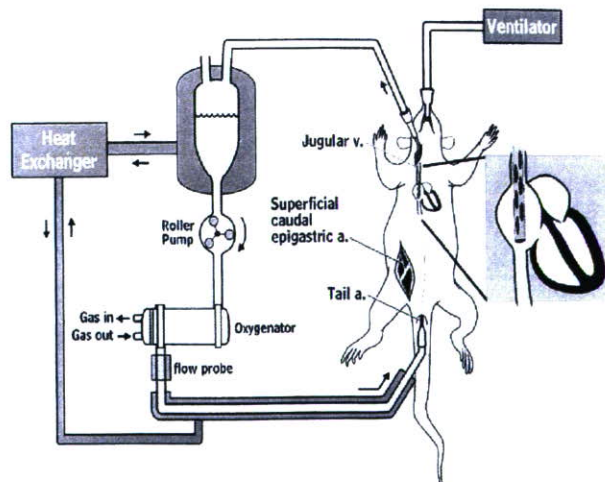
ラット用人工呼吸器麻醉器 (セボフルレンを使用)

各群の充填量と組成の組み合わせ

- | | | |
|-----|------------------------|------|
| 1 群 | HbV (-) prime 群 | n=10 |
| | 充填量 60ml (充填は 5%アルブミン) | |
| 2 群 | 輸血群 | n=10 |
| | 充填量 60ml (充填は同種血) | |
| 3 群 | HbV (+) prime 群 | n=9 |
| | 充填量 60ml (充填は Hb 小胞体) | |
| 4 群 | コントロール群 (sham surgery) | n=9 |
| | 充填量 60ml | |

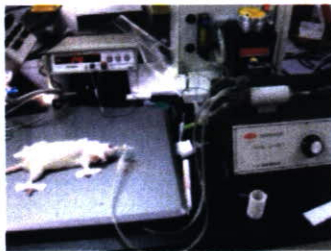


ポンプ 全体の配置





ラットを挿管し、人工呼吸器管理とした。
写真のごとく仰向けにしても血流量は変化せず測定できた。



ラットの頭蓋骨を温存しても、適切な測定機器と測定方法を選定することによって脳血流が測定可能であった。

よって、この方法により人工心肺運転中のフルヘパリン化状態においても、脳血流を測定することが可能であると考えられた。

D. 結論

人工心肺回路の充填に Hb 小胞体を用い、ヒト赤血球とほぼ同様に脳組織への酸素供給能を持つことが示唆されている。ヘパリンを全身投与している状態では、できる限り侵襲が少ないモニタリングが望ましいが、本年度の検討によりラットの頭蓋骨を障害せずに脳血流量をモニタリングする方向性が得られた。Hb 小胞体の心臓外科領域における臨床応用に向けた一歩になると考える。

③平成 19 年度

A. 研究目的

同種血輸血による人工心肺回路充填は先天性心疾患を伴う体重 10kg 以下の乳児の開心術において

一般に行われている。人工心肺回路の充填液は最低でも 300ml から 400ml 必要であり、これを晶質あるいは膠質液で満たした場合、体重 10kg 以下の患者（循環血液量は約 800ml）では、高度な血液希釈が生じ、酸素運搬を担う赤血球の相対的な減少により組織障害、特に酸素需要の大きな脳の障害を来す可能性がある。このために、現在体重 10kg 以下の患者に体外循環を行う場合、赤血球輸血は避けられない状況にある。しかし一方で、輸血は様々な合併症のリスクを伴い、特に小児においては社会的にも大きな問題となっている。

この問題解決手段のひとつとして、我々は、人工酸素運搬体である Hb 小胞体に着目した。本研究では昨年度に引き続きラットを用いた人工心肺モデルを用いて脳機能への影響を検討した。Hb 小胞体充填が脳血流量に及ぼす影響とともに脳組織酸素分圧変化についても基礎的知見を得た。

B. 研究方法

ローラーポンプと特製膜型肺を用いて人工心肺回路を作成し、回路内に 5%アルブミンを充填した群（HbV (-) 群）、小胞体を充填した群（HbV (+) 群）、5%アルブミン群の 3 群に分けて実験を行った。体重 450g 前後の SD ラットをセボフルレンにて全身麻酔し、14G 静脈留置針にて気管内挿管した。挿管後人工呼吸器管理とする。人工心肺のカニューレーションとして、脱血は経右内頸静脈的に右房から、送血は尾動脈を介して行った。人工心肺の運転は常温下、無拍動送血法で 200ml/kg/min の流量で 90 分間行った。回路内充填量は約 60ml とした。

ドップラー血流計による脳血流測定モデルは報告されているが、ラット頭蓋に孔を作成した上で測定する方法では頭蓋骨切断端からの人工心肺運転中のフルヘパリン化状態で出血量が多くなることは不可避であるため、頭蓋を温存した方法を試みた。人工心肺充填液を人工赤血球・5%アルブミン・同種濃厚赤血球の 3 種にて比較を行った。ま

た、別の実験群では脳組織酸素分圧測定を目的として脳表面に接触型組織酸素分圧端子の設置を試みた。

C. 研究結果・考察

ドップラー血流計はオメガフローFL0-C1（オメガウエーブ社製 Tokyo）と接触型フロープローブ（DS型）を用いて体重 260g の SD ラットにて行った。セボフルレンを用いて麻酔導入後、heat cutter を用いて頭頂部の頭皮を約直径 1 センチの円に切開し、さらに骨膜も切開し、頭蓋骨を露出したが、頭蓋骨自体は温存した。頭蓋骨露出部に接触型フロープローブでは血流量を安定して測定可能であった。

頭部を正中切開し、皮下組織を切開して頭頂骨及び前頭骨を露出。硬膜静脈洞を避けるため、右側頭頂部および左側頭頂部に 6mm 大の開頭を加えて硬膜を損傷しないように脳表を露出後接触型酸素分圧端子（栄光科学）の装着が可能であった。脳組織酸素分圧は循環時間 90 分において HbV (-) 群では前値の 103%、HbV 群では前値の 106%であった。これに対して 5%アルブミンでは 52%であった。

D. 結論

昨年度に引き続き人工心肺回路の充填に Hb 小胞体を用い、ヒト赤血球とほぼ同様に脳組織への酸素供給能を持つことが示唆された。ラット人工心肺モデルにおいて脳血流量とともに脳組織酸素分圧をモニタリングする方向性が得られた。

④-1. Hb 小胞体投与後の血漿および血清採取法

A. 研究目的

採血液を対象とする臨床検査では、例えば、血液生化学検査等の血漿あるいは血清を対象に行なわれるものがある。このため、採血液から血漿や血清を得る操作は血液検体の処理として通常に行なわれる。Hb 小胞体(粒径 250 nm)は赤血球に比して約 1/30 程の微粒子であるため、血球の遠

心分離条件で沈降させるのは実用上困難である。血液検体では溶血や乳糜血漿など、臨床検査の障害となる因子が知られているが、同様の理由により Hb 小胞体の血漿あるいは血清へ浮遊は検査の障害となる。従って、血球の遠心分離条件で Hb 小胞体を分離できる条件を確定し、これを従来の採血管と同様の取扱いで血漿および血清採取に利用できる方法の開発を目的とした。

E. 研究方法

Hb 小胞体に水溶性高分子を添加する場合、高分子の種類、分子量、濃度などの諸条件により Hb 小胞体の凝集が生起する場合がある。この凝集体は大粒子として取扱うことができるため、遠心分離での沈降が可能になる。本法はこの原理を利用して、採血液に浮遊する全ての Hb 小胞体を水溶性高分子添加により凝集体とし、これを血球と共に遠心分離で沈降させるものであり、そのための諸条件を設定した。高分子種を選択では、血液の生化学的性状を変化させないことが条件となるので、代用血漿として投与実績のあるデキストランを選択し、市販の分子量の異なるデキストラン粉末を生理食塩水に溶解させて凝集剤として使用(表 1)。

表 1 デキストラン溶液 (凝集剤)

No.	分子量 (kDa)	濃度 (g/dL)
1	11	20
2	19.6	20
3	40.2	20
4	72.2	20
5	124	20
6	487	20

本研究で使用した Hb 小胞体は、(株)オキシジェニクスにて調製され、諸物性値が確認された状態で研究用試料として提供された。Hb 小胞体分散液 (Hb; 0.05 g/dL, 3mL) とデキストラン溶液 (20 g/dL, 0.3 mL) を混合し (デキストラン終濃度: 1.8 g/dL)、25℃に静置して溶液濁度の変化 ($\lambda = 700$ nm) から凝集を検出し、その経時変化を観測した。

この結果から凝集生起に要する時間を決定した。

Hb 小胞体が浮遊する血液から血清を分離する実験では、出血蘇生試験のため Hb 小胞体を投与したビーグル犬の犠牲死時に採取した血液を使用した。採血液 (5 mL) とデキストラン溶液 (20 g/dL, 0.5 ~0.88 mL) を混合し、25°C で 10 分間静置した。この混合液を遠心分離 (5000 rpm, 10 分) して上澄み液からの Hb 小胞体の除去を観測した。これらの結果から、デキストランの分子量、濃度について、Hb 小胞体を完全に除去できる条件を決定した。

決定した諸条件で分離した血清について、血液生化学検査を実施した。比較は超遠心分離あるいは従来の採血管により分離した血清とした。検査は通常の臨床検査法に従い実施した。

C. 研究結果・考察

デキストラン添加による Hb 小胞体の凝集

デキストラン添加による Hb 小胞体凝集の経時変化は、添加後から遠心分離するまでの時間を決定する根拠となる。小胞体の凝集現象は溶液濁度 (光散乱強度) の増大として検出できるので、Hb 小胞体分散液にデキストラン溶液を添加し、経時的に溶液濁度の変化を計測した。図 1 に示すように、代用血漿剤として臨床で使用される分子量 70kDa 程度では凝集生起による濁度上昇を認めないが、分子量 124kDa で溶液濁度の上昇を認め、さらに分子量 487kDa では著しく上昇した。デキストランを作用させてから急速に濁度が増大し、Hb 小胞体の凝集は数分間で急速に進行することがわかる。その後、緩やかに濁度上昇し続けるが、実用上の迅速性を考慮し、デキストラン添加後に Hb 小胞体を凝集させる条件を室温 (25°C) で 10 分間静置に設定した。

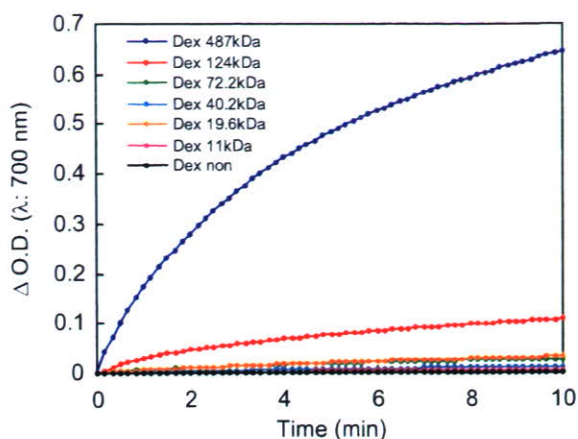


図 1 各種分子量のデキストランと Hb 小胞体分散液を混合した時の経時的な溶液濁度変化。溶液濁度上昇は Hb 小胞体の凝集を示す。

採血液からの Hb 小胞体の分離条件

Hb 小胞体の浮遊する採血液に対し、分子量の異なるデキストラン溶液を添加し、10 分間静置した後に遠心分離した採血管を図 2 に示す (デキストラン終濃度: 1.8 g/dL)。デキストラン分子量の効果は明確で、487kDa のデキストランを添加した系のみ透明な血漿が得られた。

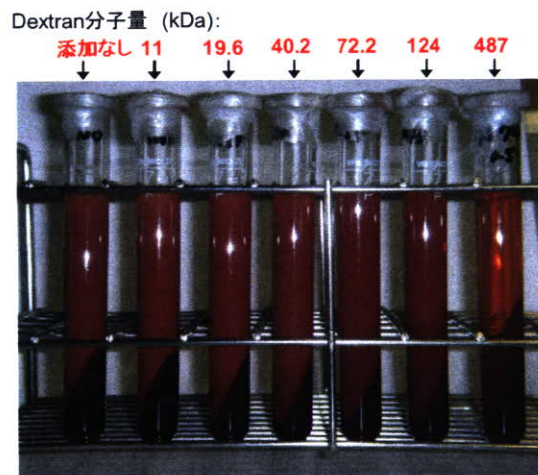


図 2 各種分子量のデキストラン (終濃度: 1.8 g/dL) を添加した採血管の分離能比較。Hb 小胞体の浮遊する採血液を遠心分離した後。

124kDa では Hb 小胞体の沈殿を認めるものの不十分であり、それ以下の分子量では沈殿を認めない。図 1 の結果との対応から、Hb 小胞体は凝集体として沈降した。この結果より、デキストランの分子

量を 487kDa に設定した。

次に、デキストラン（分子量 487kDa）の濃度条件を検討した。7mL 採血管（封入物なし）に高分子凝集剤として分子量 487kDa のデキストラン溶液 0.3~0.75 mL を添加した採血管を作成し、採血液（5 mL）を各採血管に採取して、25℃で 10 分間静置した。この混合液を遠心分離（5000 rpm、10 分）して血漿層からの Hb 小胞体の除去の有無を観測した。結果として、目視により透明な血漿層が得られるのはデキストランを終濃度で 1.8 g/dL 以上添加した場合であり、更に血漿層を超遠心分離して分析すると、2.6 g/dL 以上ではほぼ完全に Hb 小胞体が除去されることを確認した（図 2、図 3）。血漿層に Hb 由来の吸収はなく、デキストラン添加による赤血球や Hb 小胞体の溶血もない。沈殿物は下層の血球層と上層の Hb 小胞体で明らかな界面を認め、容易に各々の沈降占有容積率（クリット値）を計測できる。また Hb 小胞体の沈殿と血漿の界面も明確であるため、血漿採取は比較的容易である。

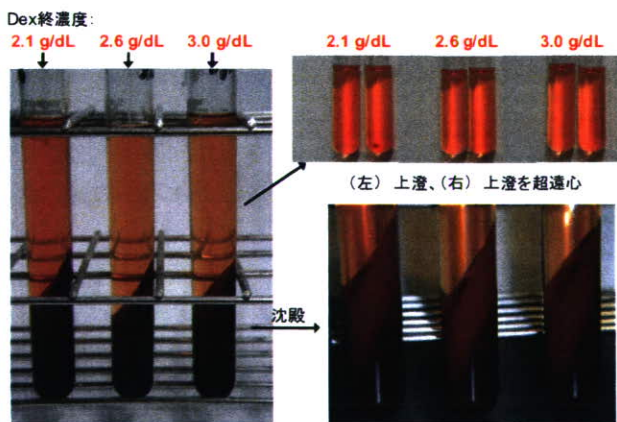


図 3 各終濃度でデキストラン（分子量：487 kDa）を添加した採血管の分離能比較。（左）Hb 小胞体の浮遊する採血液を遠心分離した後。（右上）上澄みと上澄みを超遠心分離した後。（右下）沈殿層。

以上より、Hb 小胞体の投与後には、デキストラン（分子量：487 kDa）を終濃度 2.6 g/dL となるように封入された採血管を使用すれば、従来通りの遠心分離にて濁度や Hb 吸収の干渉作用のない血漿ないし血清が採取できることが示された。この採血管にて遠心分離した血清について生化学検査を実施した。その結果を表 2 に示す。超遠心分離法は正確な測定値が得られる方法のコントロールとなるので比較すると、 β -リポ蛋白質で 70%程度の低値傾向を認めるものの、その他の項目は同等であった。 β -リポ蛋白質の一部は凝集体として沈降するものと考えられる。一方、デキストランを添加していない従来の採血管では、大部分の項目において測定値が大きく逸脱するか、検出不可であった。

D. 結論

高分子凝集剤として高分子量デキストランを封入した採血管の使用により、Hb 小胞体投与後の採血液でも従来と同じ遠心分離法により透明な血清や血漿が得られる。この採血管使用は、一部、リポ蛋白質値で 70%程度の低値となることを除き、通常実施される血液生化学検査項目の大部分に適合した。

表2 分離血清の生化学検査値比較（2検体の平均値）

項目名	単位	高分子量デキストラン収容の採血管	超遠心分離法	従来の採血管
総蛋白質	g/dL	4.3±0.0	4.3±0.1	12.3±0.7
アルブミン	g/dL	3.1±0.0	3.2±0.1	4.9±0.1
A/G		2.58±0.00	2.87±0.06	0.67±0.04
AST (GOT)	U/L	167±1	163±4	検出不可
ALT (GPT)	U/L	140±1	137±3	検出不可
LDH	U/L	180±0	193±14	184±0
ALP	U/L	202±2	200±4	115±10
γ-GTP	U/L	1.5±0.7	1±0	検出不可
LAP	U/L	16±0	15±0	検出不可
ChE	U/L	1266±4	1185±42	1075±22
総ビリルビン	mg/dL	0.3±0	0.3±0	検出不可
クレアチニン	mg/dL	0.42±0.01	0.41±0.01	検出不可
尿素窒素	mg/dL	18.5±0.0	18.3±0.1	20.8±1.1
尿酸	mg/dL	0.5±0.0	0.4±0.0	検出不可
アミラーゼ	U/L	850±1	804±20	714±3
リパーゼ	U/L	10±0	10±0	17±0
CPK	U/L	620±6	589±4	550±3
総Cho	mg/dL	69±1	75±1	872±28
遊離Cho	mg/dL	15±1	17±1	検出不可
エステル型Cho				検出不可
エステル比	%	79±1	78±1	検出不可
エステル量	mg/dL	54±0	58±0	検出不可
β-リポ蛋白	mg/dL	39±2	56±1	5448±294
HDL-Cho	mg/dL	57±0	58±2	52±1
中性脂肪 (TG)	mg/dL	7±0	7±1	19±2
総脂質	mg/dL	271±1	278±6	1829±59
遊離脂肪酸	mg/dL	1.11±0.01	1.11±0.01	0.86±0.04
リン脂質	mg/dL	161±0	159±4	502±14
Na	mEq/dL	164±0	165±2	147±1
K	mEq/dL	3.8±0.0	3.8±0.1	3.4±0.0
Cl	mEq/dL	133±1	135±1	115±1
Ca	mg/dL	8.3±0.0	8.5±0.1	21.9±0.7
Fe	μg/dL	144±1	141±1	検出不可
リポ蛋白*	mg/dL	5.8±0.1	3.0以下	検出不可
LDL-Cho	mg/dL	2±0	2±0	21±1

* 指定外材料の為参考値

④-2. Hb 小胞体沈降占有容積率からの濃度換算

A. 研究目的

血液中 Hb 濃度は臨床的には自動血球測定装置や自動血液ガス分析装置にて測定される。Hb 濃度が測定される条件では、赤血球は各種試薬にて可溶化されるが、同条件で Hb 小胞体が可溶化されない場合がある。その場合、Hb 小胞体の光散乱が測定に干渉する。また、赤血球由来 Hb と Hb 小胞体由来 Hb とを個別に定量する必要がある場合、自動血球測定装置による測定では困難である。本研究では、比較的簡便な方法で Hb 小胞体由来と赤血球由来の Hb を個別に定量する方法として、沈降占有容積率からの換算の妥当性を評価することを目的とした。

B. 方法

Hb 小胞体分散液 (Hb 濃度 : 0.5~10 g/dL、各 1 mL) にデキストラン溶液 (分子量 : 487 kDa、20 g/dL、0.15 mL) を混合してヘマトクリット管に充填した。これを遠心分離 (10,000 rpm、45 分間) して沈降占有容積率を計測した。沈降占有容積率は赤血球のヘマトクリット値と同様の方法で算出され、溶液全体の容積に対する Hb 小胞体沈降占有容積の比率を意味する。Hb 濃度と沈降占有容積率をプロットして濃度換算式を導いた。

C. 研究結果・考察

Hb 小胞体にデキストランを添加することにより、Hb 小胞体は遠心分離にて沈降し、沈降占有容積率の計測が可能であった。この時の Hb 濃度と沈降占有容積率の相関を図 1 に示す。沈降占有容積率と Hb 濃度の一次比例関係が得られ、換算式が導入できた。時間に依らず沈降容積が一定になるには 45 分間の遠心分離を要するため、遠心分離時間の設定が必要である。また、高濃度試料では凝集生起による高粘性化がキャピラリーへの吸上げを困難にするなどの課題もあり、自動血球測定装置と比較して迅速性、簡便性は大きく劣るものの、赤

血球と Hb 小胞体由来の Hb を個別に測定できる方法として利用できる。

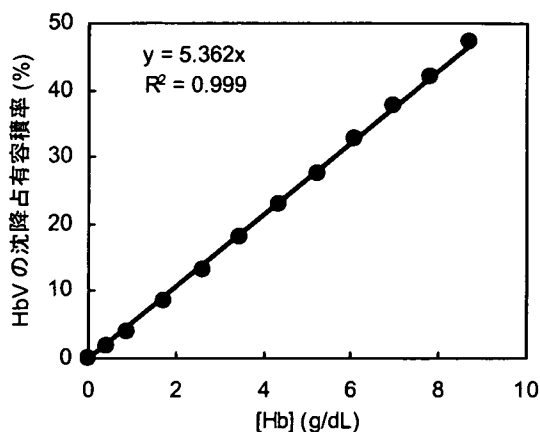


図 4 Hb 小胞体の沈降占有容積率と Hb 濃度の相関関係。

D. 結論

沈降占有容積率は Hb 小胞体濃度に一次比例するため、沈降占有容積率から Hb 濃度の換算は可能である。Hb 小胞体をヘマトクリット管で沈殿させる場合にも高分子凝集剤の添加が有効であった。

④-3. 限外濾過による Hb 小胞体の分離

A. 研究目的

輸血には外科的手術時の体外循環回路の補填液など失血を伴わない適用もある。このような適用では、術中数時間の酸素運搬を補完できる代替物が望まれている。HbV は血液と混合した場合でも大きさの相違による分離方式を利用すれば血液から分離できるという特長を有す。この特長により、術後に体外回路を利用して HbV を体外に取り出すことが可能となる。この手段として、限外濾過により血漿から HbV を分離する方法を検討した。

B. 研究方法

1. 試料

ビーグル犬より血液 260mL を採取し、遠心分離 (5000 rpm、10 分) して上層の血漿を 130mL 採

取、これに HbV (Hb: 10g/dL) を 26mL (血漿に対して 20 vol%) 混合して試料とした。

2. 限外濾過

限外濾過装置 (Labscale™ TFF System) を使用して HbV を混合した血漿を循環させ、透過液を回収。限外濾過条件は以下の通り。

A. 限外濾過膜：DURPORE® (0.1 μm, Millipore), 孔径 0.1 μm, 親水性ポリビニリデンフロライド (PVDF) 製、濾過面積 50 cm², 流速：30 mL/min

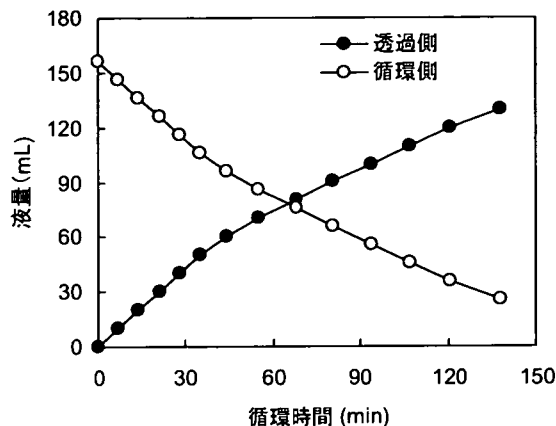
B. 限外濾過膜：BIOMAX® (1000kDa, Millipore), 孔径 1000kDa, ポリエーテルスルホン製、濾過面積 50 cm², 流速：30 mL/min

C. 研究結果

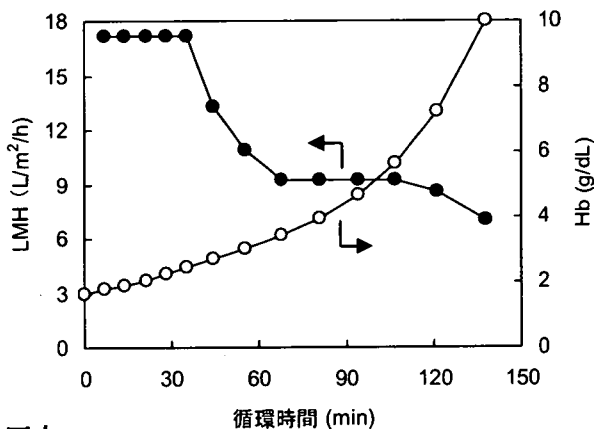
遠心型血液成分分離装置など (例えば AS.TEC204, Fresenius 社製) を利用することにより、血液を血球と血漿に分離するのは比較的容易である。このとき、HbV は血漿層に浮遊するので、さらに血漿成分を返血するには、HbV を除去する方法が必要になる。医療用の血漿分離膜としてデッドエンド型の限外濾過膜が市販されているが、この場合、膜の目詰まりによる処理効率低下が顕著になる。そこで、比較的目詰まりが少ないことを特徴とするタンデンシャルフローフィルターによる限外濾過を検討すると、初期の LMH は DURPORE® で 17L/m²/h、BIOMAX® で 30L/m²/h であった (図 5, 6 b)。BIOMAX® は DURPORE® に比して約 2 倍の処理効率がある。加えて、DURPORE® では透過側への HbV の漏出が著しい (目視で観測される) が、BIOMAX® では漏出が殆どなかった。両膜共に HbV の Hb 濃度にして 2.5 g/dL 程度 (初期 Hb 濃度：1.67 g/dL) まで濃縮が進むと LMH の低下と入口圧の上昇が認められ、濃縮進行により著しくなる (図 5, 6 b, c)。入口圧が 40 psi を越した時点で循環を終了させると、透過

側の回収液量は DURPORE® で 130 mL (処理液量: 156 mL の 83%回収)、BIOMAX® で 120 mL (処理液量: 156 mL の 77%回収) であった。この事実は、限外濾過により 8 割程度の回収率で HbV を分離した血漿を回収できることを示す。

(a) 液量の推移



(b) LMH と循環側 Hb 濃度



(c) 圧力

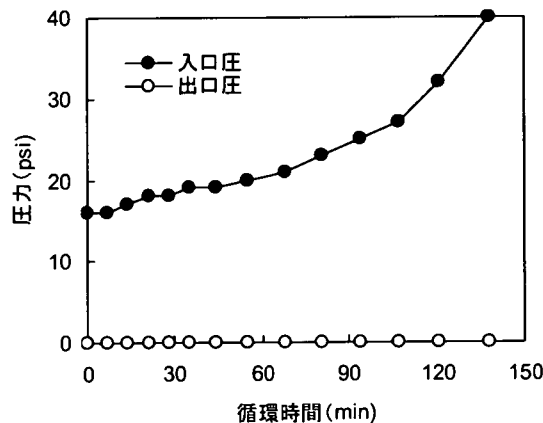
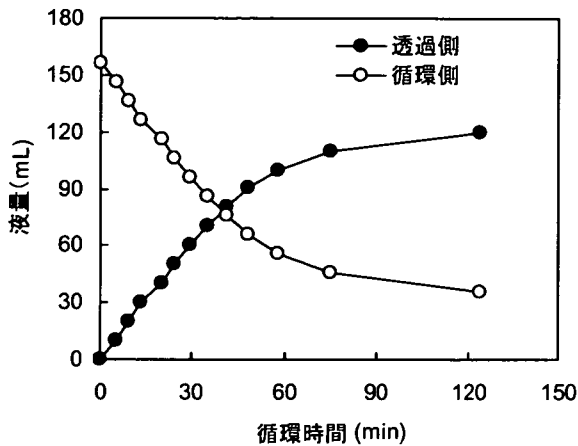
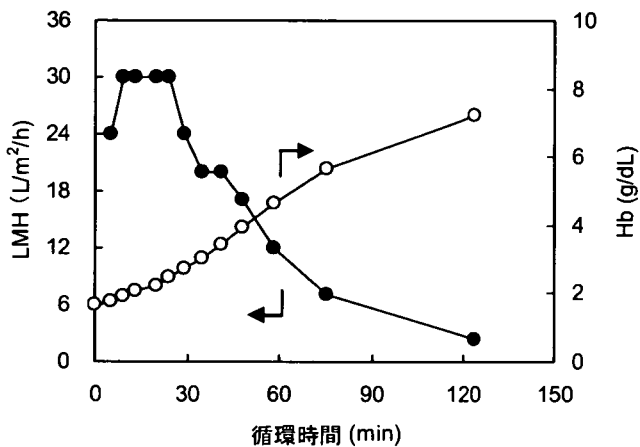


図 5 限外濾過における変数の推移 (DURPORE® 0.1 μm)

(a) 液量の推移



(b) LMH と循環側 Hb 濃度



(c) 圧力

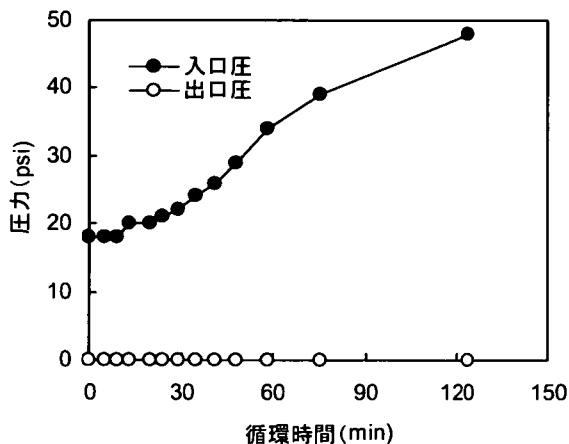


図6 限外濾過における変数の推移 (BIOMAX® 1000kDa)

D. 結論

限外濾過法により、血漿から HbV を容易に分離

できることが確認できた。限外濾過膜の特性により HbV の阻止効率、処理効率が異なり、今回の検討ではポリエーテルスルホン製が優れていた。循環側の HbV 濃縮が進行した状態では入口圧の上昇と LMH 低下が著しいため、希釈液を循環液に添加することにより改善されると考えられる。

④-4. 多波長パルス分光法を用いた Hb 小胞体用パルスオキシメータの開発

A. 研究目的

Hb 小胞体(HbV)について優れた酸素運搬機能と安全性(完全代謝、毒性なし)が実証されてきている。ME 技術に関連する課題の一つとして、臨床現場で緊急投与の場合、患者の容態、また HbV の機能変化を継続して支障なく観察することがある。日本光電社(青柳)の開発したパルスオキシメータは、経皮的・非侵襲的に動脈血液のみの酸素飽和度(deoxy-oxy 二成分系)と心拍数を計測でき、救急医療、集中医療の現場で呼吸管理に利用され、その有用性も十分に認知されている。従って、HbV を投与した場合も、支障なく計測できることが望まれる。HbV は還元酵素系を有しないため、次第に Hb が酸化し、比較的早い時間にメトヘモグロビン(MetHb)が増大するが、パルスオキシメータは二成分系の測定を前提とするので、血中に MetHb が存在すると正確測定が出来ないことは既に知られている。そこで、現行のパルスオキシメータを使用した場合の HbV の干渉作用の有無を確認すると共に、HbV 投与後も酸素飽和度および MetHb 含量を正確に計測できる新しいパルスオキシメータ開発を目的とした。

(註) 日本光電工業(株) 武田 朴 氏、須崎 裕典 氏との共同研究として推進された。

B. 研究方法

1. 計測装置に用いる検出波長の決定法

パルスオキシメータの原理であるパルス分光法

は、分光分析の基本理論であるLambert-Beerの法則を応用したものである。まず、Hb諸成分の可視光-近赤外スペクトル(既知)をもとに、Lambert-Beerの法則を利用し、式(1)から波長*i*, *j*における減光度比Φを計算し、濃度の変化に対して相関の高い減光度比Φを理論的に検討した。

$$\Phi_{i,j} = \frac{\Delta A_i}{\Delta A_j} = \frac{E'_{O_2Hb} \cdot C_{O_2Hb} + E'_{RHb} \cdot C_{RHb} + E'_{COHb} \cdot C_{COHb} + E'_{MetHb} \cdot C_{MetHb}}{E^j_{O_2Hb} \cdot C_{O_2Hb} + E^j_{RHb} \cdot C_{RHb} + E^j_{COHb} \cdot C_{COHb} + E^j_{MetHb} \cdot C_{MetHb}} \dots (1)$$

E : 吸光係数(dl/g/cm)

C : 濃度(g/dl)

(添字 : O₂Hb=酸素化ヘモグロビン, RHb=還元ヘモグロビン, COHb=一酸化炭素ヘモグロビン, MetHb=メトヘモグロビン)

i, j = 610, 620, 660, 730, 805, 940 nm

式(1)において、O₂Hbの濃度は60~100%、MetHbは1~40%、COHbは1%、RHbは1~40%とした。総ヘモグロビン濃度tHb=16g/dlとし、各血液成分濃度をg/dlに変換してから式(1)に代入し、重回帰分析を実施した。検討結果は図7である。最も標準誤差が小さかった組合せは620、730、805、940 nmであったが、他の組合せも十分に精度高く、660 nmと940 nmの2波長が含まれていれば従来のパルスオキシメータとの比較ができるため620、660、730、940 nmの4波長を選択した。

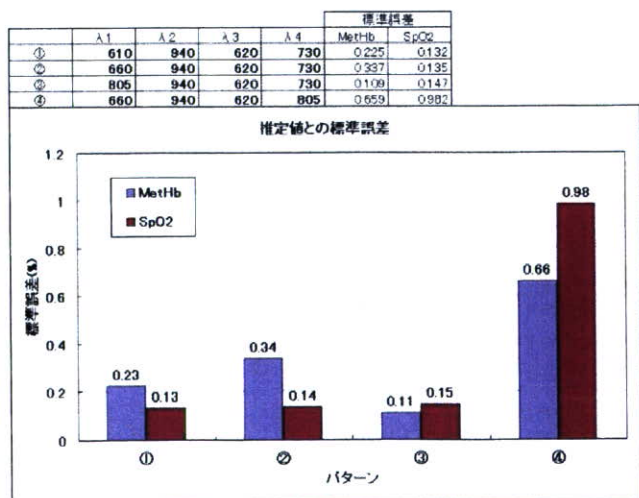


図7 重回帰分析による推定値との標準誤差

2. 4波長光学システム

測定プローブ(TL-301P)に4波長LED(620, 660, 730, 940nm, 株式会社光波)を組み込み、DDGアナライザ(DDG-3300)の内部ソフトウェアを改良して人工赤血球用のパルスオキシメータを開発したので、使用した4波長LEDの概観と基板図面を図8に示す。また4波長LEDの特性を表3に示す。開発した人工赤血球用パルスオキシメータのプローブを図9に、概観を図10に示す。

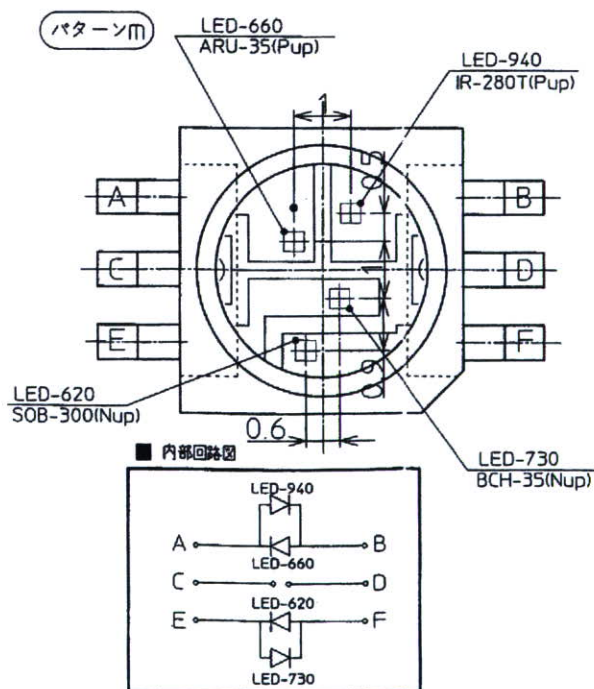
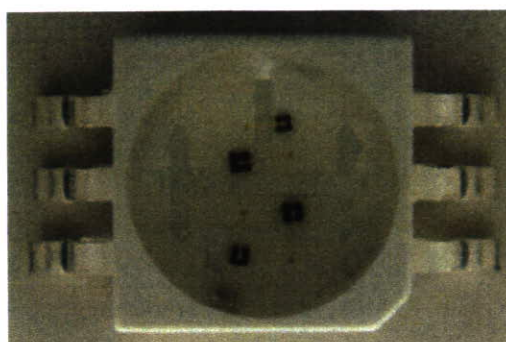


図8 4波長LED(株式会社光波製)の概観と基板図面

表3 4波長LED特性 (W.L.: Wavelength, Po: Total Output Power, Vf: Forward Voltage, λ_p : Peak Wavelength, $\Delta\lambda$: スペクトル半値幅)

W.L. (nm)	940	660	620	730
Po (mW)	3.24	5.12	1.86	3.49
Vf (V)	1.2	1.8	1.9	1.6
λ_p	944.0	657.6	621.6	732.9
$\Delta\lambda$	45.8	24.4	20.2	28.8

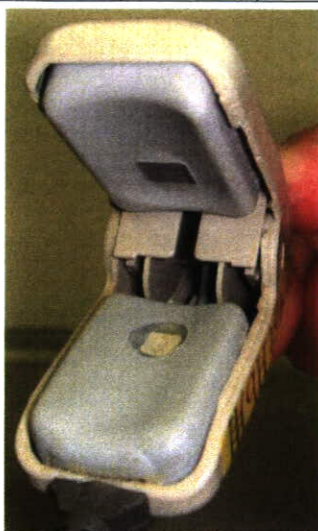


図9 開発したプローブ

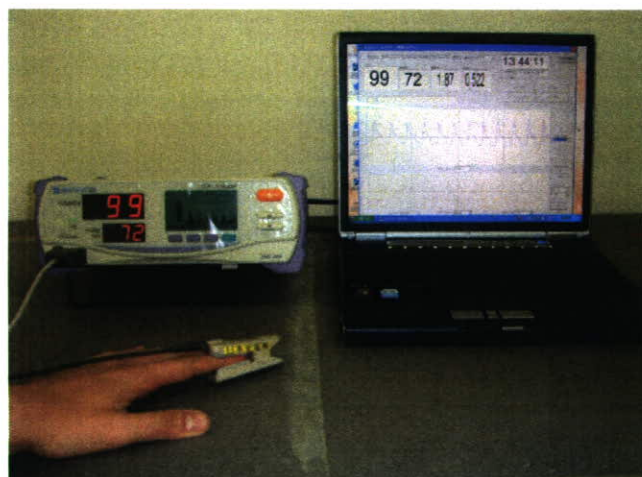


図10 人工赤血球用パルスオキシメータの概観

3. *In vitro*実験

HbVの光学特性に起因する干渉作用についての検討を目的とした*in vitro*実験を実施した。HbVの粒子径(250nm)は赤血球(8 μ m)に比較して小さく、更にパルスオキシメータに使用される

光源波長よりも小さい。従って波長600~1300nmの光の散乱特性が異なると予想され、HbV投与後にHbVの光学特性がパルスオキシメータに干渉作用を与えると予想される。しかし、動物にHbVを投与する場合、干渉作用の原因を生理的な現象なのか、光学特性であるのかを特定できない。そこで、血液循環シミュレータを用いてHbVを血液に混合する実験を行い、生理的な条件を排除し、血液の光学特性のみに着目した。

使用した血液循環シミュレータは拍動ポンプ(Centrimag Blood Pumping System, Levitronix, Massachusetts, USA, 図11)、脈動フローセル、人工肺(泉工医科工業株, 図12)から構成され、容量は約120mlであった(図13)。血液循環シミュレータを水に浸し、多用途加熱&保温ヒーター(SCH-901, クマガイ電工株)、熱電対(TR-1101-100, 株アドバンテスト)、Thermal Arraycorder (WR7800, グラフテック株)を用い37 $^{\circ}$ Cに維持した。

血液循環シミュレータに豚血液(tHb=6.1g/dl)を充填し、拍動流循環させた。ポンプ出口の圧力を収縮期で100~130mmHg、拡張期で70~100mmHgとし、流量を470~500ml/minに設定した。圧力および流量波形を図14に示す。

5%アルブミン溶液に分散させたHbVをりん酸緩衝生理塩水で希釈し、200ml(4.9g/dl)として使用した。動物実験ではビーグルの総Hb濃度が約10g/dlに対し投与HbV濃度が8.6g/dlなので、豚血液の総Hb濃度は6.1g/dlとし、動物実験と同じ濃度比とした。循環している豚血液をHbVで段階的に置換し、パルスオキシメータの酸素飽和度表示の変化を調べた。置換量は内容量の0%、20%、40%、60%とした。人工肺では純酸素をガス交換させ、酸素飽和度を100%に維持した。



図11 拍動ポンプ (Centrimag Blood Pumping System, Levitronix, Massachusetts, USA)

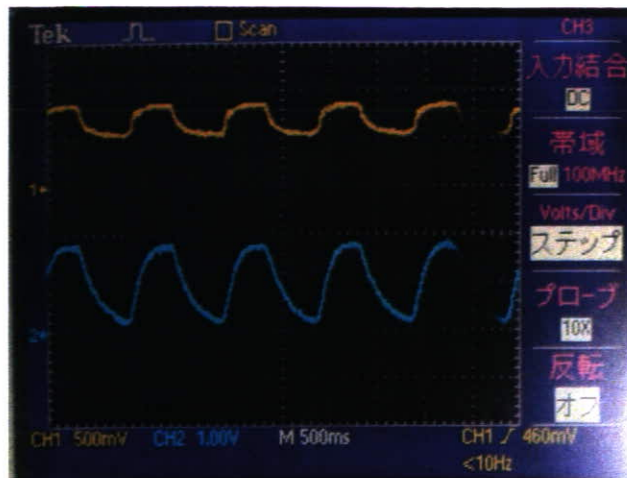


図 14 圧力および流量波形



図 12 人工肺 (泉工医科工業株)

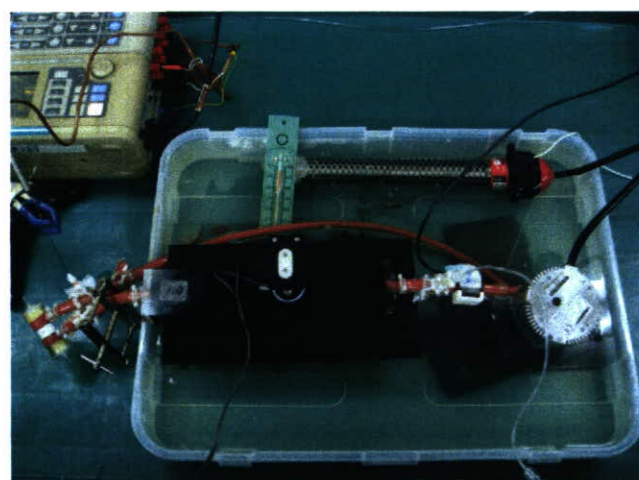


図 13 血液循環シミュレータ

4. 動物実験

慶應義塾大学呼吸器外科(堀之内宏久 講師、池田達彦 助手)にてビーグル7頭を用いHbV投与実験を実施。ビーグルは人工呼吸器 (MODEL SN-480-3, (株)シナノ製作所)を用いてセボフルレン2~3%麻酔下で安静状態に維持。ビーグル体重：約7kgから推定される一回換気量は70mlであるが、人工呼吸器に繋がれているチューブの容積と麻酔の影響を考慮に入れ、一回換気量は約140ml、換気速度は20回程度とした。

ビーグルの循環血液量の40%を脱血し、1時間経過してから5%リコンビナントアルブミンに分散させたHbV(8.6 g/dL)を同量投与した。脱血前、HbV投与直後、投与2時間後、投与4時間後のそれぞれについて、吸気酸素濃度FiO₂を20%、100%、15%と調整することによりSaO₂を変化させた。ビーグルの舌に4波長光学システムのプローブを取り付け(図15)、SaO₂およびMetHbの変化に対する各波長の減光度を連続的に測定した。

採血による測定は酸素解離曲線を用いた。CO-oximeter (ABL555, Radiometer)より測定した動脈血酸素分圧PaO₂より赤血球とHbVの酸素解離曲線から赤血球とHbVそれぞれの酸素飽和度を算出。赤血球とHbVの酸素解離曲線を図16に示す。赤血球とHb小胞体の混合率から、動脈血の酸素飽和度を算

出した。混合率の算出方法は、先ず血液を小型遠心機(チビタン-R, 2,000G, 6,200rpm, コスモ・バイオ(株))を用いて遠心分離し、赤血球とHbVを含有する血漿層に分離、全血のHb濃度と血漿層のHbV由来のHb濃度をシアノメトヘモグロビン法により得た。ヘマトクリット値をもとに、血液中の赤血球由来Hb濃度とHbV由来のHb濃度を求め、混合率を算出。採血液中のHbV由来MetHb濃度は、紫外可視分光光度計を用い、脱酸素条件で測定した波長405、430nmにおける吸光度の比から算出。

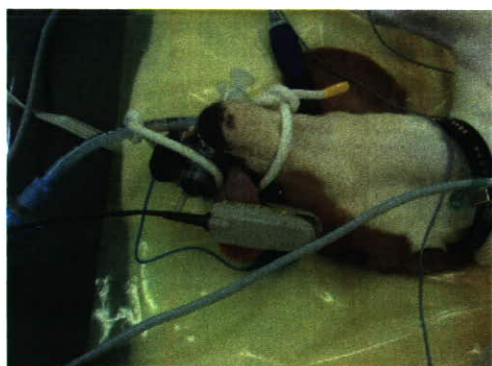


図 15 4波長光学システム測定場所

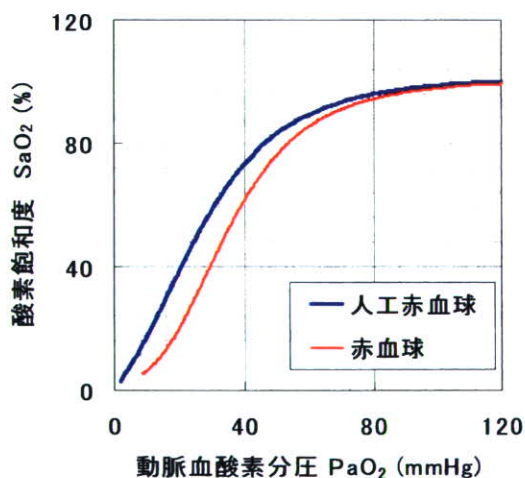


図16 HbVとビーグル赤血球の酸素解離曲線

5. 解析法

4波長光学システムで計測した各波長の減光度比から酸素飽和度、およびMetHb濃度を求める計算式の構築には重回帰分析を用いた。重回帰分析とは複数の数量変数から1つの数量変数を予測するモデル作成のための統計解析の一手法である。

重回帰式から求めた血液成分濃度を本法の測定値とし、本法の測定値と採血による測定値を比較し、本法の精度を検証した。4波長光学システムで計測した減光度比から酸素飽和度およびMetHbを求める計算式を構築するために、動物実験に用いたビーグル7頭のうち、ビーグル4頭のデータを用いて重回帰分析を行った。計算式構築に用いたビーグル4頭のデータ(28データ)をTraining setと呼ぶ。独立変数は最大で6個とし、偏相関係数が最も小さい独立変数を計算式から除外し、独立変数の個数を1個ずつ減少させた。独立変数の個数が1~6個それぞれの計算式における相関係数、AIC(赤池の情報量基準:一般性判定基準)、自由度調整済み寄与率を求め、最適計算式決定の指標とした。決定した計算式の再現性の確認には、残りのビーグル3頭のデータ(27データ)に構築した計算式を適応した。再現性を確認したビーグル3頭のデータはValidation setと呼ばれている。

C. 研究結果

1. In vitro実験

In vitro実験におけるHbV置換比とパルスオキシメータ表示の関係を図17に示す。血液をHbVで段階的に置換すると、パルスオキシメータが表示する酸素飽和度は低下傾向を示した。

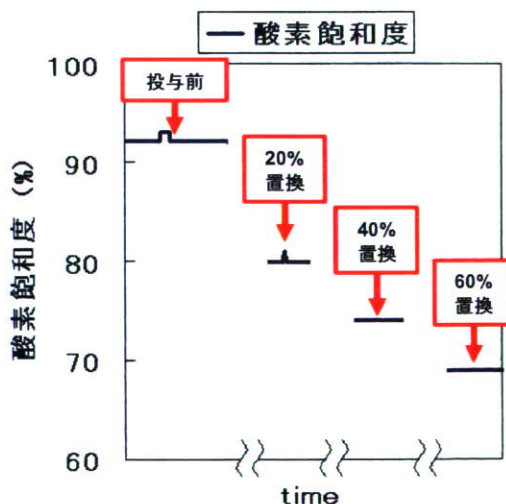


図 17 In vitro実験におけるHbV置換量に対するパルスオキシメータの酸素飽和度表示の関係

2. 動物実験

HbV投与前後における、パルスオキシメータによる酸素飽和度SpO₂と採血による酸素飽和度SaO₂の関係、および誤差を図18に示す。動物実験でも*in vitro*実験と同様に、HbV投与後にパルスオキシメータが表示する酸素飽和度は過小評価となることが判明した。酸素飽和度の各計算式における統計量を表4、酸素飽和度の各計算式における相関係数、自由度調整済み寄与率、AICの変化を図19に示す。酸素飽和度の最適な計算式として、 $\phi_{660/940}$ 、 $\phi_{660/730}$ 、 $\phi_{620/660}$ 、 $\phi_{730/940}$ 、 $\phi_{620/940}$ の5つの独立変数が選択された。5つの独立変数による計算式を式(2)に示す。

$$SpO_2 = -90.0 - 150.1 \times \phi_{660/940} + 144.2 \times \phi_{660/730} + 25.2 \times \phi_{620/660} + 225.6 \times \phi_{730/940} - 42.0 \times \phi_{620/940} \quad \dots (2)$$

Training set における採血による酸素飽和度

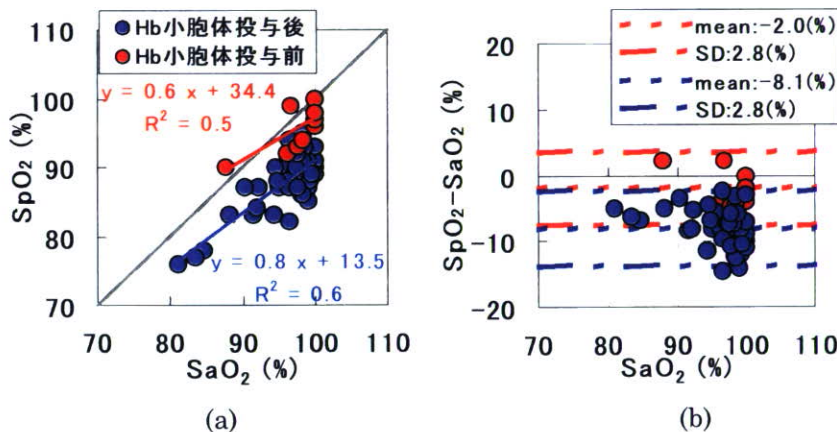


図18 HbV投与前後における、(a)パルスオキシメータによる酸素飽和度SpO₂と採血による酸素飽和度SaO₂の関係、および(b)誤差

表4 酸素飽和度の各計算式における統計量

各独立変数の偏相関係数	$\phi_{660/940}$	-0.32	-0.62	-0.72	-0.67	-0.63	-0.60
	$\phi_{660/730}$	0.25	0.69	0.65	0.59	×	×
	$\phi_{620/660}$	0.14	0.32	×	×	×	×
	$\phi_{730/940}$	0.74	0.75	0.72	0.67	0.44	×
	$\phi_{620/940}$	-0.16	-0.39	-0.34	×	×	×
	$\phi_{620/730}$	-0.01	×	×	×	×	×
偏差平方和S _E	113.57	113.60	126.13	142.41	219.94	273.18	
サンプル数N	28	28	28	28	28	28	
独立変数の数n	6	5	4	3	2	1	
相関係数	0.73	0.73	0.704	0.665	0.483	0.358	
AIC	134.67	132.67	133.60	135.00	145.17	149.24	
自由度調整済みの寄与率	0.657	0.673	0.652	0.624	0.442	0.334	

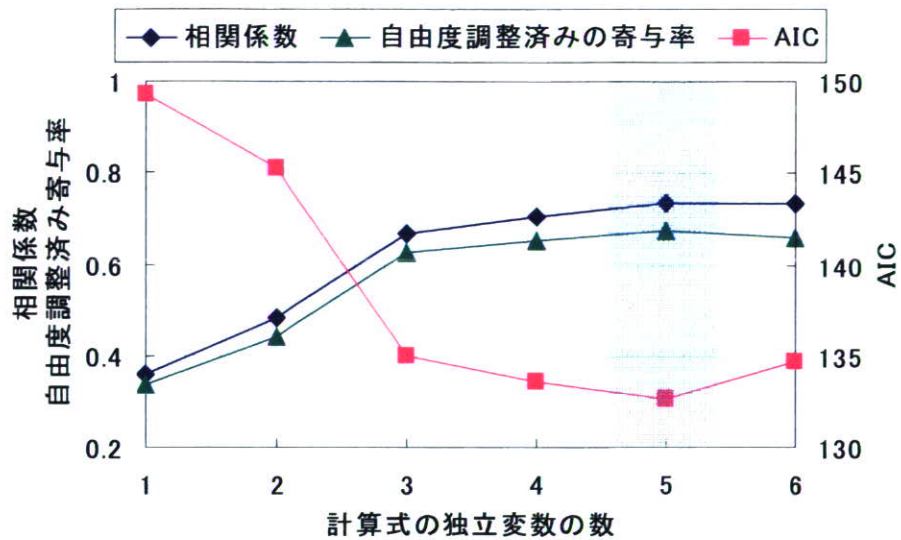


図19 酸素飽和度の各計算式における相関係数、自由度調整済み寄与率、AIC の変化

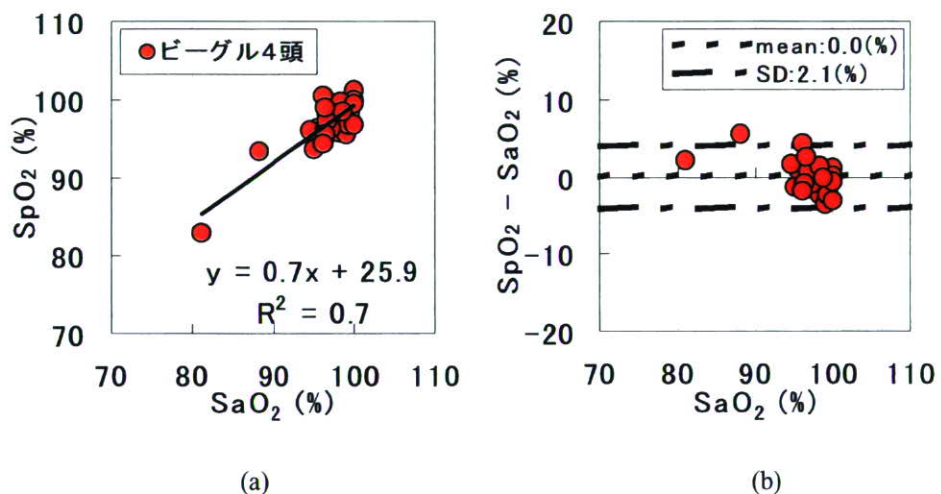


図20 Training setにおける採血による酸素飽和度SaO₂と4波長による酸素飽和度SpO₂の関係および誤差

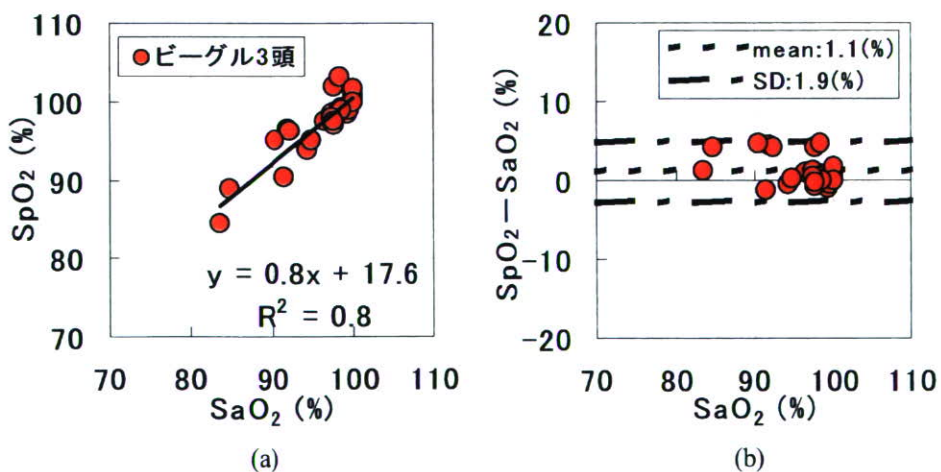


図21 Validation setにおける採血による酸素飽和度SaO₂と4波長による酸素飽和度SpO₂の関係および誤差